

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему
УДК 616-092.9+616.441+546.41+612.015.3+591.84

ДИНАМІКА ЗМІН КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНОГО ОБМІНУ ТА СТАНУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ЗНИЖЕНОЇ ФУНКЦІЇ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ТА ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

©Н. Г. Побігун, І. В. Ємельяненко

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

РЕЗЮМЕ. Проаналізовані зміни показників кальцій-фосфорного обміну та стану кісткової тканини (за даними денситометрії) при експериментальній гіпофункції щитоподібної залози за умов дії хронічного стресу. Виявлено зниження вмісту іонізованого кальцію в плазмі крові, гіперкальціурію та гіпомагніурію на фоні зменшення мінеральної щільності кісткової тканини в ділянках головки та метафіза стегнових кісток, порівняно з аналогічними показниками у тварин з дисфункцією щитоподібної залози.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпофункція щитоподібної залози, хронічний стрес, кальцій, фосфор, мінеральна щільність кісткової тканини.

Вступ. Проблема стресу набула першочергового значення в житті сучасного суспільства. Хронічний стрес залишається однією з актуальних проблем сьогодення, оскільки контингент людей, які зазнають дії стресорів, постійно зростає. Стрес впливає практично на всі функції організму, від системних до молекулярних [1, 2]. Результати останніх досліджень свідчать про порушення гормонального стану щитоподібної залози (ЩЗ) та мінерального обміну, зокрема зниження рівня тиреоїдних гормонів, гіпокальціємію та гіпомагніємію, що виникають під впливом хронічного стресу [3, 4]. Однак зміни кальцій-фосфорного гомеостазу, викликані дією хронічного стресу на тлі гіпофункції ЩЗ, вивчені недостатньо. Тому метою нашого дослідження було з'ясування змін показників кальцій-фосфорного обміну та мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) при експериментальній гіпофункції ЩЗ за умов дії хронічного емоційно-больового стресу (ХС).

Матеріал і методи дослідження. Об'єктом дослідження були фізіологічні механізми дії дефіциту тиреоїдних гормонів за умов ХС на кальцій-фосфорний обмін. Дослідження проводили на 48 нелінійних статевозрілих щурах-самцях вагою 150–180 г, яких утримували за умов звичайного світлового та температурного режиму кафедрального віварію з вільним доступом до їжі та води. Розподіл за групами досліджень був наступний: I група – інтактні тварини, II група – щури із гіпофункцією ЩЗ, III група – тварини, що піддавались дії ХС, IV група – щури із зниженою функцією ЩЗ за умов дії ХС. Гіпофункцію ЩЗ моделювали шляхом щоденного додавання до питної води тварин препарату МЕРКАЗОЛІЛ-ЗДОРОВ'Я (м. Харків, Україна) з розрахунку 10 мг/кг маси тіла протягом 15 діб. Підтримувальна доза становила 5 мг/кг маси тіла тварини [5]. ХС моделювали згідно з методикою О. Desiderato в модифікації С. Д. Валова щоденно по 1 год протягом 30 днів [6]. Забір крові для дослідження проводили з черевної аорти під

кетаміновою анестезією (100 мг/кг маси). Утримання тварин та маніпуляції на них проводили згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). З метою оцінки гормонального статусу в сироватці крові щурів досліджували вміст тиреотропного гормону гіпофіза (ТТГ), вільного трийодтироніну (vT_3), вільного тироксину (vT_4), кальцитоніну та паратгормону. Усі вказані гормони визначали імуноферментним методом. Периферійну активність тиреоїдних гормонів оцінювали за допомогою інтегрального тиреоїдного індексу (ТІ), який розраховували за формулою – $(vT_3 + vT_4)/ТТГ$ [7]. За допомогою біохімічних методів вивчали вміст загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору, магнію, загального білка, альбумінів, лужної фосфатази в сироватці крові та концентрацію іонів кальцію, фосфору і магнію в сечі інтактних та дослідних тварин. Проводили еталонну денситометрію стегнових кісток щурів усіх груп з метою з'ясування змін МЩКТ [8]. Статистичний аналіз результатів виконано за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 6.0. Для перевірки нормального розподілу даних використовували критерії Колмогорова–Смірнова та Ліліфорса [9]. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента з поправкою Бонферроні–Холма [10]. Достовірними вважали значення $p < 0,05$.

Результати й обговорення. У попередньому нашому дослідженні [11], в сироватці крові щурів з експериментальною гіпофункцією ЩЗ, спостерігали достовірне підвищення рівня паратгормону. При проведенні біохімічного аналізу сироватки крові щурів із зниженою функцією ЩЗ було виявлено зменшення концентрацій загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору, при

підвищенні рівня магнію. У той же час, встановлено гіперкальціурію та гіпомагнійурію за відсутності змін екскреції фосфору. Денситометричне дослідження щурів з гіпотиреоїдною дисфункцією ЩЗ показало зниження МЩКТ у ділянці головки та метафіза стегнової кістки.

У сироватці крові експериментальних тварин, які піддавались дії ХС, рівень вТ₃ достовірно зменшився в 1 раз ($p < 0,01$), вТ₄ – у 2 рази ($p < 0,001$), а вміст ТТГ та ТІ вірогідно не відрізнялися від відповідних даних інтактних тварин (табл. 1). Виявлені гормональні зміни підтверджують літературні дані,

які вказують на зниження гормоносинтезувальної активності ЩЗ і появу ознак її гіпофункції в умовах довготривалого стресу очікування [12]. При цьому значно зріс рівень паратгормону, вміст якого в сироватці крові перевищив на 19,58 % ($p < 0,01$) контрольні показники. Однак вміст кальцитоніну в плазмі крові щурів вищевказаних груп вірогідно не змінився. Поряд із порушеннями тиреоїдного статусу в крові щурів за умов дії ХС відмічено виражені зміни біохімічних показників (табл. 2). Так, вміст іонізованого кальцію вірогідно знизився на 25,71 % ($p < 0,05$), магнію – на 34,1 %

Таблиця 1. Показники гормонального статусу сироватки крові інтактних та дослідних щурів, ($M \pm \delta$)

Показники	I група (інтактні)	II група (Г)	III група (ХС)	IV група (Г+ХС)	Значення p
ТТГ, мМО/мл	0,02±0,01	0,05±0,01	0,02±0,01	0,1±0,04	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} > 0,05$ $p_{II-IV} < 0,01$
вТ ₃ , пмоль/л	5,57±0,91	2,7±1,08	4,56±0,26	1,99±0,21	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,01$ $p_{II-IV} > 0,05$
вТ ₄ , пмоль/л	10,35±2,14	3,57±1,05	4,76±2,3	1,78±0,27	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$
Тиреоїдний індекс (ТІ)	1009,7±553,67	122,08±31,94	562,71±337,43	45,08±28,86	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} > 0,05$ $p_{II-IV} < 0,001$
Кальцитонін, пг/мл	5,15±0,48	4,98±0,72	5,02±0,49	5,03±0,31	$p_{I-II} > 0,05$ $p_{I-III} > 0,05$ $p_{II-IV} > 0,05$
Паратгормон пг/мл	4,24±0,31	5,05±0,48	5,07±0,72	5,58±0,5	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,01$ $p_{II-IV} > 0,05$

Примітка: достовірними вважали значення $p < 0,05$.

Таблиця 2. Біохімічні показники сироватки крові інтактних та дослідних щурів, ($M \pm \delta$)

Показники	I група (інтактні)	II група (Г)	III група (ХС)	IV група (Г+ХС)	Значення p
Кальцій заг., ммоль/л	2,31±0,18	2,06±0,14	2,5±0,28	2,2±0,26	$p_{I-II} < 0,01$ $p_{I-III} > 0,05$ $p_{II-IV} > 0,05$
Кальцій іон., ммоль/л	0,35±0,07	0,24±0,04	0,26±0,05	0,19±0,04	$p_{I-II} < 0,01$ $p_{I-III} < 0,05$ $p_{II-IV} < 0,05$
Фосфор, ммоль/л	1,24±0,37	0,88±0,23	1,74±0,29	1,01±0,18	$p_{I-II} < 0,05$ $p_{I-III} < 0,01$ $p_{II-IV} > 0,05$
Магній, ммоль/л	0,44±0,04	0,62±0,19	0,29±0,15	0,5±0,26	$p_{I-II} < 0,05$ $p_{I-III} < 0,05$ $p_{II-IV} > 0,05$
Білок загаль., г/л	65,92±4,06	76,17±4,63	68,92±4,38	74,5±5,81	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} > 0,05$ $p_{II-IV} > 0,05$
Альбуміни, г/л	39,5±2,81	41,33±2,19	53,08±2,97	51,08±4,58	$p_{I-II} > 0,05$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$
Лужна фосфатаза, нмоль/с·л	4892,5±918,59	4423,33±1363,55	5672,17±1715,02	3802,17±1040,81	$p_{I-II} > 0,05$ $p_{I-III} > 0,05$ $p_{II-IV} > 0,05$

Примітка: достовірними вважали значення $p < 0,05$.

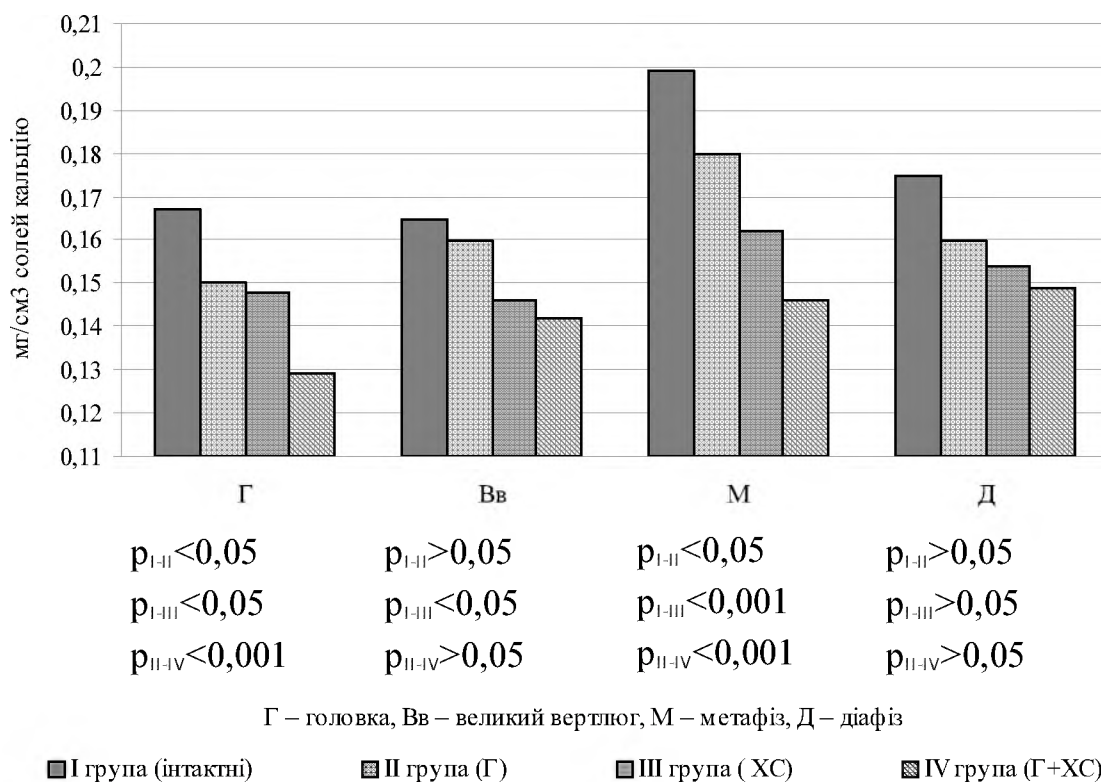
($p < 0,05$), а фосфору – зріс на 40,32 % ($p < 0,01$) щодо аналогічних показників I групи. Проте достовірних змін вмісту загального кальцію та загального білка в сироватці крові щурів III групи відносно даних контрольних тварин не встановлено. Натомість рівень альбумінів у щурів цієї групи суттєво підвищився (на 34,38 %, $p < 0,001$) щодо показника інтактної групи. Виявлено відсутність вірогідної розбіжності вмісту лужної фосфатази у тварин обох груп. У результаті біохімічного аналізу добової сечі встановлено значні зміни показників мінерального обміну у тварин за умов дії ХС (табл. 3). Так, рівень кальцію достовірно збільшився на 65,45 % ($p < 0,01$), фосфору – на 69,15 %

($p < 0,01$), а магнію – знизився на 40,42 % ($p < 0,001$) відносно аналогічних показників інтактних щурів. При проведенні денситометричного дослідження встановлено (рис. 1), що у тварин, які піддавались дії ХС, МЩКТ у ділянці головки стегнової кістки зменшилась на 11,38 % ($p < 0,05$), великого вертлюга – на 11,52 % ($p < 0,05$), а метафіза – на 18,59 % ($p < 0,001$), порівняно з контрольними даними. Однак у ділянці діафіза стегнової кістки суттєві відмінності МЩКТ між цими групами відсутні. Таким чином, негативний вплив ХС виявляється у зниженні вмісту іонізованого кальцію, гіпомагніємії, гіперкальційурії та гіперфосфорурії на тлі зниження МЩКТ [13].

Таблиця 3. Біохімічні показники добової сечі інтактних та дослідних щурів, ($M \pm \delta$)

Показники	I група (інтактні)	II група (Г)	III група (ХС)	IV група (Г+ХС)	Значення р
Кальцій (сеча), ммоль/добу	1,65 \pm 0,72	2,62 \pm 0,91	2,73 \pm 0,55	3,52 \pm 0,6	$p_{I-II} < 0,05$ $p_{I-III} < 0,01$ $p_{II-IV} < 0,05$
Фосфор (сеча), ммоль/добу	47 \pm 21,49	42,83 \pm 14,8	79,5 \pm 13,05	47,17 \pm 24,9	$p_{I-II} > 0,05$ $p_{I-III} < 0,01$ $p_{II-IV} > 0,05$
Магній (сеча), ммоль/добу	3,34 \pm 0,21	2,8 \pm 0,51	1,99 \pm 0,54	1,45 \pm 0,76	$p_{I-II} < 0,01$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$

Примітка: достовірними вважали значення $p < 0,05$.



Примітка: достовірними вважали значення $p < 0,05$.

Рис. 1. Мінеральна щільність стегнових кісток інтактних та дослідних тварин.

ХС на фоні зниженої функції ЩЗ супроводжувався більш значними змінами тиреоїдного статусу, про що свідчить виражене зростання вмісту ТТГ (у 2 рази, $p < 0,001$) та зменшення в T_4 (у 2 рази, $p < 0,001$) та ТІ (у 2,5 рази, $p < 0,001$) відносно аналогічних даних у тварин із гіпотиреоїдною дисфункцією. Достовірних змін вмісту в T_3 , кальцитоніну та паратгормону в сироватці крові обох цих груп не спостерігалось. У тварин із зниженою функцією ЩЗ, що піддавались дії ХС, біохімічний аналіз сироватки крові не показав суттєвих розбіжностей концентрації загального кальцію, фосфору та магнію з аналогічними даними у щурів з гіпотиреоїдною дисфункцією. Проте вміст іонізованого кальцію в сироватці крові тварин ІV групи достовірно знизився на 20,83 % ($p < 0,05$) відносно рівня ІІ групи. Не виявлено вірогідних відмінностей вмісту в сироватці крові тварин вищевказаних груп загального білка та лужної фосфатази. Однак, спостерігали достовірне зростання альбумінів на 23,59 % ($p < 0,001$) в плазмі крові тварин, яким моделювали ХС на фоні гіпофункції ЩЗ, порівняно із щурами ІІ групи. Аналіз добової сечі тварин ІV групи

показав збільшення концентрації кальцію на 34,35 % ($p < 0,05$) та зниження вмісту магнію на 48,21 % ($p < 0,001$) щодо даних ІІ групи. Достовірної зміни екскреції фосфору в цих групах не спостерігали. Денситометричне дослідження стегнових кісток щурів із зниженою функцією ЩЗ, які піддавались дії ХС, встановило зниження МЩКТ у ділянці головки та метафіза, відповідно, на 14,57 % ($p < 0,001$) і 17,05 % ($p < 0,001$) відносно аналогічних даних тварин з гіпотиреоїдною дисфункцією поруч із відсутністю вірогідних змін у ділянці великого вертлюга і діафізу.

Висновки. ХС на тлі гіпофункції ЩЗ призводить до більш виражених змін, зокрема погіршення тиреоїдного статусу, зменшення вмісту іонізованого кальцію в сироватці крові, гіперкальціурії та гіпомангнійурії на фоні зниження МЩКТ у ділянках головки та метафіза стегнових кісток, порівняно із аналогічними показниками у тварин з дисфункцією ЩЗ.

Перспективи подальших досліджень полягають у пошуку ефективних методів корекції впливу хронічного стресу на організм при гіпофункції ЩЗ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Морфометричні індекси функціональної активності щитоподібної залози при стрес-реакції / Т. М. Бойчук, А. А. Ходоровська, К. М. Чала [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 2 (58). – С. 89–91.
2. Алексеенко Н. О. Експериментальні дослідження впливу мінеральної води «Свалівська» на функціональний стан нирок за умов моделювання хронічного іммобілізаційно-емоційного стресу / Н. О. Алексеенко, С. Г. Гуца, Н. О. Ярошенко // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т. 16, № 3 (63). – С. 45–47.
3. Stressor states and the cation crossroads / K. T. Weber, S. K. Bhattacharya, K. P. Newman [et al.] // J. Am. Coll. Nutr. – 2010. – Vol. 29 (6). – P. 563–574.
4. Bagnasco M. Stress and autoimmune thyroid diseases / M. Bagnasco, I. Bossert, G. Pesce // Neuroimmunomodulation. – 2006. – Vol. 13 (5–6). – P. 309–317.
5. Небожина М. В. Влияние экспериментального гипотиреоза, вызванного введением мерказолила, на состояние процессов свободнорадикального окисления в ткани печени в условиях рентгеновского облучения / М. В. Небожина // Эндокринология. – 1999. – Т. 4, № 2. – С. 261.
6. Валов С. Д. Нейробиологические аспекты регуляции пролиферации, роста и цитодифференцировки железистых эпителиев различного генеза : автореф. дис. на соискание учен. степени док. мед. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / С. Д. Валов. – Томск, 2004. – 20, [1] с.
7. Оцінка функціонального стану гіпофізарно-тирео-

їдної системи при йододефіцитних станах у дітей, що проживають в екологічно забрудненому регіоні / Н. С. Косминіна, О. З. Гнатейко, Н. С. Лук'яненко [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т. 17, № 1 (65). – С. 52–55.

8. Остеопороз на Украине / [Поворознюк В. В., Подрушняк Е. П., Орлова Е. В. и др.]. – К. : Ин-т геронтологии АМН Украины, 1995. – 48 с.

9. Лемешко Б. О нормальности погрешностей измерений в классических экспериментах и мощности критериев, применяемых для проверки отклонения от нормального закона / Борис Лемешко, Андрей Рогожников // Метрология. – 2012. – № 5. – С. 3–26.

10. Децик О. З. Методичні підходи до узагальнення результатів наукових досліджень / О. З. Децик // Галицький лікарський вісник. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 1–4.

11. Побігун Н. Г. Кальцій-фосфорний баланс та мінеральна щільність кісткової тканини при експериментальній гіпотиреоїдній дисфункції / Н. Г. Побігун // Галицький лікарський вісник. – 2013. – Т. 20, № 4. – С. 137–139.

12. Гормональний стан ЩЗ за умов розвитку різних типів загальних неспецифічних адаптаційних реакцій в експерименті та клініці / С. Т. Зуб, О. М. Радченко, Б. А. Пласунов [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 142–144.

13. Anxiety and stress among science students. Study of calcium and magnesium alterations / G. Grases, J. A. Perez-Castello, P. Sanchis [et al.] // Magnesium research. – 2006. – Vol. 19 (2). – P. 102–106.

DYNAMICS OF CHANGES OF CALCIUM-PHOSPHORUS METABOLISM AND STATE OF BONE TISSUE IN CONDITIONS OF HYPOFUNCTION OF THYROID GLAND AND INFLUENCE OF CHRONIC STRESS

©N. H. Pobihun, I. V. Yemelyanenko

SHEI «Ivano-Frankivsk National Medical University»

SUMMARY. The changes of indexes of calcium-phosphorus metabolism and state of bone tissue according to densitometry in experimental hypofunction of thyroid gland in conditions of action of chronic stress have been analyzed. The decrease of ionized calcium in blood plasma, hypercalciuria and hypomagniuria on the background of decrease of bone mineral density in the area of head and metaphysis of femur have been detected in comparison with the similar indexes in animals with dysfunction of thyroid gland without the action of stress.

KEY WORDS: hypofunction of thyroid gland, chronic stress, calcium, phosphorus, bone mineral density.

Отримано 04.04.2014